

Патогенные и условно-патогенные анаэробы, общая характеристика. Возбудители анаэробной инфекции, столбняка, ботулизма.

Неспорообразующие анаэробы.

План лекции

- Общая характеристика патогенных и условно-патогенных анаэробов.
- Характеристика возбудителей газовой анаэробной инфекции.
- Характеристика возбудителя столбняка.
- Характеристика возбудителя ботулизма.
- Классификация неспорообразующих анаэробов.
- Общая характеристика неспорообразующих анаэробов.
- Методы диагностики инфекций вызванных неспорообразующими анаэробами.

Общая характеристика патогенных анаэробных бактерий.

Облигатные анаэробы - микроорганизмы, живущие только в условиях крайне низкого содержания кислорода - в почве, или водоемов, кишечника позвоночных и человека. У теплокровных анаэробы составляют основную массу нормальной кишечной микрофлоры и определяют ряд важнейших функций организма.

Классификация клостридий по экологическим и патогенным свойствам

- сапрофиты, вызывающие бродильные (сахаролитические) процессы;
- сапрофиты, вызывающие процессы гниения (протеолиза);
- патогенные виды - по биохимическим свойствам могут вызывать процессы гниения и брожения.

Группы

патогенных видов клостридий

- возбудителей травматических (раневых) клостридиозов - газовой гангрены; столбняка;
- возбудителей энтеральных клостридиозов (токсикоинфекций) - ботулизма, псевдомембранозного колита и виды, вызывающие патологические процессы только в ассоциациях между собой или с другими микроорганизмами.

- Анаэробная инфекция — инфекционное заболевание, вызываемое анаэробами, характеризующееся общей интоксикацией, некрозом тканей, их распадом. Обычно под анаэробной инфекцией понимают раневую инфекцию, однако анаэробы могут поражать любые органы и ткани.
- Анаэробная инфекция вызывается облигатными анаэробами, разделяющимися на 2 группы: бактерии, образующие споры (клостридии), и бактерии, не образующие спор, или так называемые неклостридиальные анаэробы. Раневая инфекция, вызванная бактериями рода *Clostridium* (*C. perfringens*, *C. novyi*, *C. ramosum* и др.), называется газовой гангреной.

Спорообразующие анаэробы.

Семейство: **Clostridiaceae**

Род: **Clostridium**

1. Возбудители газовой гангрены (*Cl. perfringens*, *novyi*, *septicum*, *histolyticum*, *sordellii*, *fallax*)
2. Возбудители столбняка (*Cl. tetani*)
3. Возбудители ботулизма (*Cl. botulinum*)

Морфология возбудителей анаэробной газовой инфекции *Clostridium perfringens*



Грамположительные палочки.

Патогенные представители: *Cl. perfringens*, *Cl. novyi*, *Cl. septicum*, *Cl. histolyticum*, *Cl. sordellii*, *Cl. ramosum* и др.

Морфология и культивирование.

- Возбудители газовой гангрены — палочковидные грамположительные бактерии, образующие овальные споры, в диаметре превышающие поперечник вегетативной части.
- В пораженных тканях клостридии газовой гангрены формируют капсулу. Культивируются на жидких и плотных питательных средах в анаэробных условиях.

Резистентность и экология.

- Вегетативные формы клостридий чувствительны к кислороду, солнечному свету, высокой температуре, кислотам, дезинфицирующим средствам. Споры в противоположность вегетативным формам устойчивы к высоким температурам, кислотам и другим физическим и химическим факторам.
- Возбудители газовой гангрены, являясь нормальными обитателями кишечника животных и человека, с фекалиями попадают в почву, где споры длительное время сохраняются. В некоторых почвах клостридии могут размножаться.

Факторы вирулентности *C.perfringens*

Факторы вирулентности		Биологический эффект
Токсины (главные)	альфа-токсин (лецитиназа)	расщепляет лецитин клеточных мембран; увеличивает сосудистую проницаемость, разрушает эритроциты; некротизирующая активность
	бета-токсин	некротизирующая активность; индукция гипертензии в результате образования катехоламинов
	эпсилон-токсин	усиливает сосудистую проницаемость желудочно-кишечного тракта
	йота-токсин	некротизирующая активность и усиление сосудистой проницаемости
	энтеротоксин	нарушает проницаемость слизистой тонкого кишечника
Токсины (минорные)	дельта-токсин	гемолиз
	тета-токсин	гемолиз, цитолиз
	каппа-токсин	коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
	лямбда-токсин	протеаза
	мю -токсин	гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
	ню-токсин	дезоксирибонуклеаза, гемолитическая, некротизирующая активность
	нейраминидаза	повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах

- **Эпидемиология.** Газовая гангрена в связи с широкой распространенностью возбудителя встречается довольно часто, особенно при массовых ранениях и травмах (войны, катастрофы) и несвоевременной хирургической обработке ран.
- **Патогенез и клиническая картина.** Газовая гангрена развивается в результате попадания спор возбудителей в рану, особенно при наличии в ране некротизированных тканей, снижении резистентности организма. Образующие вегетативными формами кластридий токсины и ферменты приводят к повреждению здоровых тканей и тяжелой общей интоксикации организма. Инкубационный период короткий — 1—3 дня, клиническая картина разнообразна и сводится к отеку, газообразованию в ране, нагноению с интоксикацией. Течение болезни усугубляют сопутствующие микроорганизмы (стафилококки, протей, кишечная палочка).

- **Иммунитет.** Перенесенная инфекция не создает иммунитета. Ведущая роль в защите от токсина принадлежит антитоксическому иммунитету.

Методы лабораторной диагностики

- бактериоскопия отделяемого ран;
- выделение и идентификацию возбудителя;
- выявление и идентификацию токсина в биопробах с использованием реакции нейтрализации специфическими антитоксическими антителами.

Профилактика и лечение

- **Лечение** хирургическое: иссечение всех омертвевших тканей. После операции назначают антибиотики широкого спектра действия.
При тяжелых ранениях вводят антитоксические сыворотки против основных видов клостридий по 10 тысяч МЕ, в лечебных целях - по 50 тысяч МЕ.
- **Профилактика.** Правильная хирургическая обработка ран, соблюдение асептики и антисептики при операциях.
- Для активной иммунизации применяют анатоксины против газовой гангрены в составе секстанатоксина; прививки проводят по специальным показаниям

Столбняк - острая раневая инфекция, характеризующаяся поражением нейротоксином двигательных клеток спинного и головного мозга, которое проявляется в виде судорог поперечно - полосатой мускулатуры.

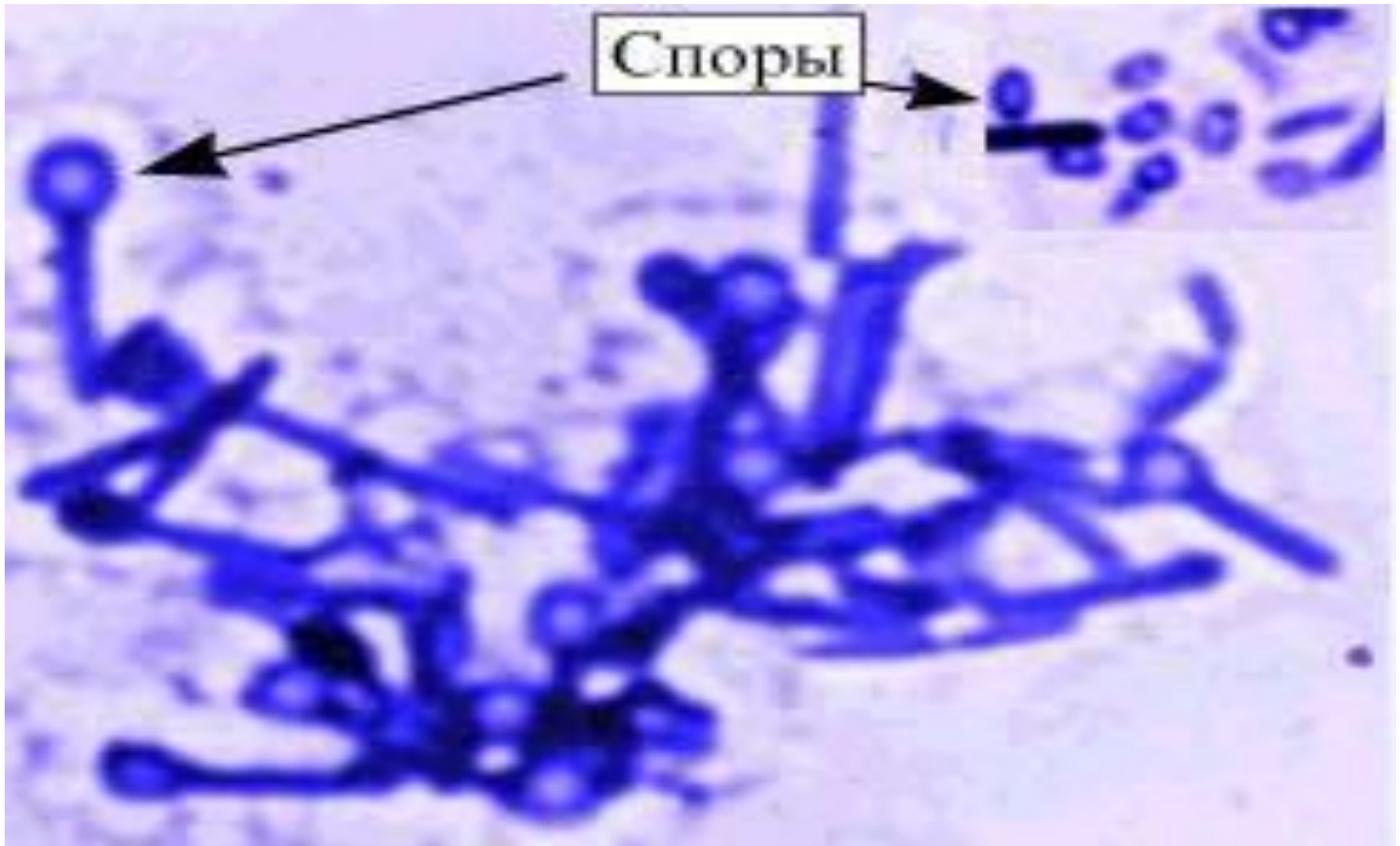
Болеют люди и сельскохозяйственные животные.

Почва, особенно загрязненная испражнениями человека и животных, является постоянным источником заражения столбняком.

- **Морфология и культивирование.** Столбнячная палочка — строгий анаэроб, грамположительна, ее размеры 0,5—1,7x2—18 мкм (см. рис. 13.1); перитрих, образует терминально расположенную круглую спору, продуцирует сильный экзотоксин при выращивании на жидких питательных средах. На плотных питательных средах формирует прозрачные или слегка сероватые колонии с шероховатой поверхностью; не расщепляет углеводов, обладает слабыми протеолитическими свойствами.

Антигенная структура.

- По H-антигену *C. tetani* делят на 10 сероваров.
- O-Антиген является общим для всех представителей вида. Все серовары продуцируют однородный токсин, нейтрализующийся иммунной сывороткой против токсина любого серовара.



Clostridium tetani. Грамположительные палочки. Споры круглые, терминально расположенные.

- **Резистентность и экология.** *C. tetani* распространен повсеместно. Являясь нормальным обитателем кишечника человека и животных, он попадает в почву, где в виде спор может сохраняться годами, десятилетиями. Столбнячная палочка весьма устойчива к дезинфектантам. При кипячении споры погибают через 50—60 мин.

Факторы патогенности.

- Основным фактором патогенности является экзотоксин. Столбнячный токсин представляет собой белок с молекулярной массой около 150 кД. Состоит из тетанолизина и тетаноспазмина, оказывающих гемолитическое и спастическое действие. К столбнячному токсину чувствительны человек, мыши, морские свинки, кролики и другие животные.

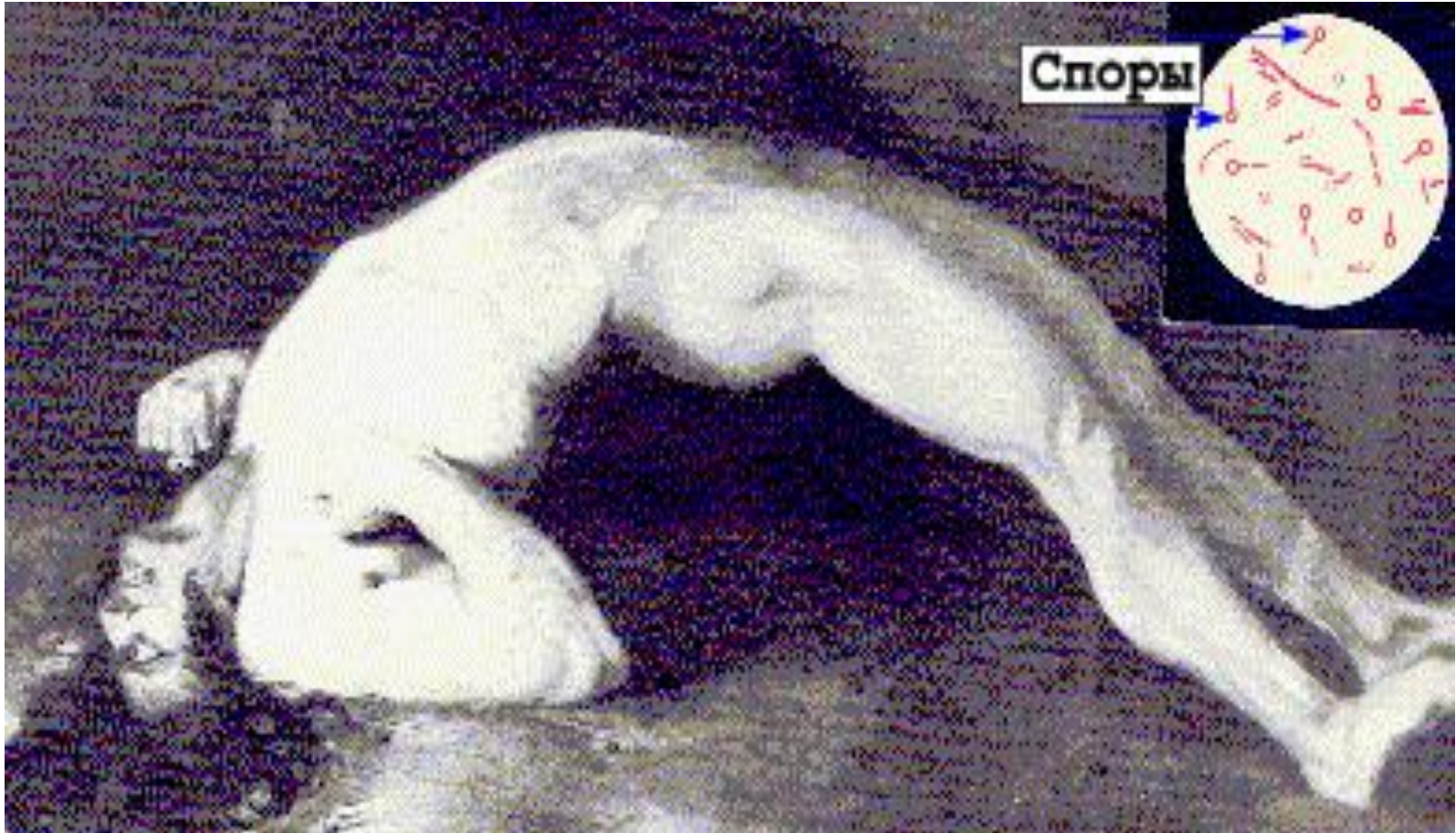
Факторы вирулентности *Clostridium tetani*

Факторы вирулентности		Биологический эффект
Столбнячный экзотоксин	Тетанолизин	Лизис эритроцитов, обладает кардиотоксическим и летальным эффектами
	Тетаноспазмин	Спастическое действие (непроизвольное сокращение поперечно-полосатых мышц) из-за поражения синапсов

- **Эпидемиология.** Столбняк распространен повсеместно, вызывая спорадическую заболеваемость с высокой летальностью. Заражение происходит при проникновении возбудителя в организм через дефекты кожи и слизистых оболочек при ранениях (боевых, производственных, бытовых), ожогах, отморожениях, через операционные раны. При инфицировании пуповины возможно развитие столбняка у новорожденных. Больной столбняком не заразен для

- **Клиническая картина.** Инкубационный период составляет 6—14 дней. У больных наблюдаются спазм жевательных мышц, затрудненное глотание, напряжение мышц затылка, спины (туловище принимает дугообразное положение — опистотонус), судороги мышц всего тела, повышенная чувствительность к различным раздражителям. Заболевание протекает при повышенной температуре тела и ясном сознании.
- **Иммунитет.** После перенесенной болезни иммунитет не вырабатывается. От матери, вакцинированной против столбняка, новорожденным передается непродолжительный пассивный антитоксический иммунитет.

Опистотонус



- **Микробиологическая диагностика.**

Микробиологические исследования лишь подтверждают клинический диагноз.

- Для бактериологического исследования берут материал из раны и воспалительных очагов, а также кровь, в культурах выявляют столбнячный токсин, проводя опыт на мышах, у которых развивается характерная клиническая картина.
- **Биопроба на белых мышах.** Одну группу заражают исследуемым материалом, вторую (контрольную) - после смешивания проб с антитоксической столбнячной сывороткой. При наличии столбнячного токсина опытная группа мышей погибает, контрольная - остается живой.

- **Лечение.**

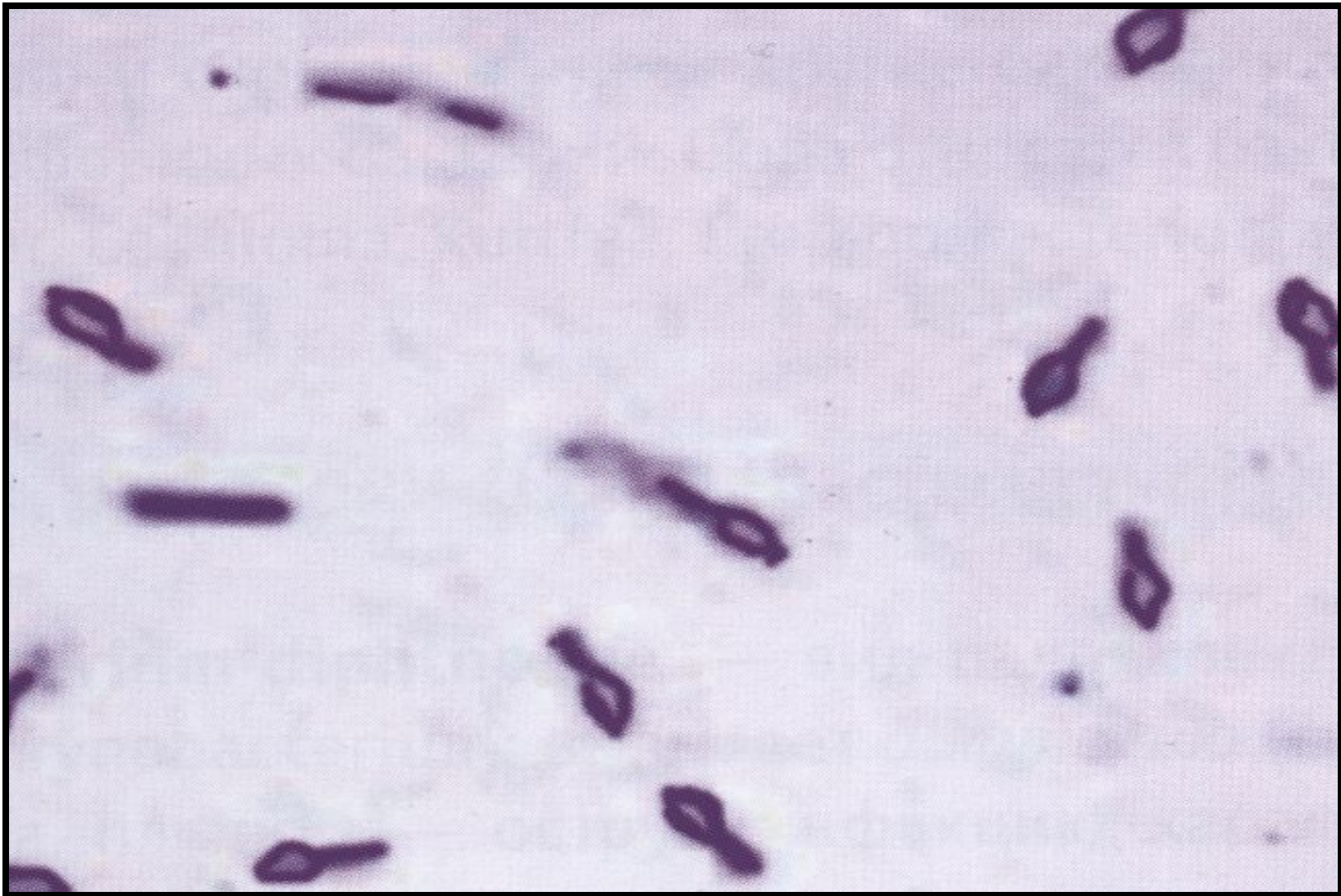
Применяют противостолбнячную антитоксическую сыворотку или противостолбнячный иммуноглобулин человека.

- **Профилактика.** При обширных травмах необходимо обратиться к врачу. Проводят хирургическую обработку раны. Надежным способом защиты от столбняка является специфическая профилактика, которая состоит в проведении **плановой** профилактической и **экстренной** иммунизации.
- **Экстренная активная** иммунизация осуществляется у привитых детей и взрослых при травмах, ожогах и отморожениях, укусах животных, внебольничных абортах введением 0,5 мл столбнячного анатоксина; непривитым вводят 1 мл столбнячного анатоксина и 250 МЕ человеческого иммуноглобулина. При отсутствии последнего вводят после предварительной внутрикожной пробы противостолбнячную гетерологичную сыворотку в дозе 3000 МЕ.
- Для создания искусственного активного иммунитета в **плановом порядке** применяют адсорбированный столбнячный анатоксин в составе вакцин АКДС и АДС или секстанатоксина.

Микробиология ботулизма

Ботулизм - тяжелая пищевая токсикоинфекция, связанная с употреблением продуктов, зараженных *C.botulinum* и содержащих продуцируемый возбудителем экзотоксин, характеризуется специфическим поражением центральной нервной системы. Свое название получила от лат. *botulus* - колбаса.

- **Морфология и тинкториальные свойства.** Возбудители ботулизма имеют форму палочек длиной 3—9 мкм, шириной 0,6—1 мкм с закругленными концами. Палочки образуют субтерминально расположенные споры (см. рис. 10.1) и имеют вид теннисной ракетки. Капсулы не образуют, перитрихи. Грамположительны.
- **Культивирование.** *C. botulinum* — строгий анаэроб. Оптимальная температура для роста 25—35 °С, рН среды 7,2—7,4. На кровяном агаре образует небольшие прозрачные колонии, окруженные зоной гемолиза. В высоком столбике сахарного агара колонии имеют вид пушинок или зерен чечевицы.



Cl. botulinum. Грамположительные палочки с закругленными концами и субтерминальными спорами. Различают 8 сероваров: **A, B, C₁, C₂, D, E, F, G.**

- **Ферментативная активность.** *C. botulinum* обладает большим набором сахаролитических и протеолитических ферментов.
- **Антигенными свойствами,** наиболее важными для идентификации возбудителя, обладает экзотоксин *C. botulinum*. Различают сероваров возбудителя ботулизма — А, В, С, D, Е, F, G, из которых наиболее распространены А, В, Е.

- **Резистентность** Споры *C. botulinum* обладают очень высокой резистентностью к высоким температурам (выдерживают кипячение в течение 3—5 ч).

- **Факторы патогенности.** *C. botulinum* выделяет экзотоксин, самый сильный из всех биологических ядов. Смертельная доза для человека равняется 0,3 мкг. Ботулинический экзотоксин оказывает нейротоксическое, гемагглютинирующее действие. Его особенностью является высокая устойчивость к нагреванию (сохраняется в течение 10—15 мин при 100 °С), кислой реакции, высоким концентрациям поваренной соли, замораживанию, пищеварительным ферментам.

Действие токсина

Токсин оказывает нейротоксическое действие.

Токсин попадает в организм с пищей.

Токсин быстро всасывается в желудочно - кишечном тракте, проникает в кровь, избирательно действует на ядра продолговатого мозга и ганглиозные клетки спинного мозга.

Развиваются нервно - паралитические явления - нарушения глотания, афония, дисфагия, офтальмо - плегический синдром (косоглазие, двоение в глазах, опущение век), параличи и парезы глоточных и гортанных мышц, остановка дыхания и сердечной деятельности.

Лабораторная диагностика

- **Бактериологический метод.** Исследуют промывные воды желудка, рвотные массы, остатки пищи.
- Выделяют и идентифицируют возбудитель, однако наибольшее практическое значение имеет обнаружение ботулотоксина и определение его серотипа. Для выделения возбудителя пробы сеют на плотные среды и накопительную среду Китта - Тароцци (часть материала предварительно прогревают при +85° С).
- **Биологическая проба.** Для изучения токсина проводят биопробы на белых мышах (одна группа - опытная и четыре контрольные со смесью материала и соответствующей антисыворотки - типа А, В, С и Е). Погибают все партии, кроме одной (с гомологичной типу токсина антисывороткой).
- Определение токсина в РНГА с антительным диагностикумом

- **Лечение.** Используют антитоксические противоботулинические гетерологичные сыворотки и гомологичные иммуноглобулины.

Профилактика. Основную роль в предупреждении ботулизма играет соблюдение определенных правил приготовления продуктов, прежде всего домашних консервов. Особенно опасны грибные консервы домашнего приготовления и другие продукты, хранящиеся в анаэробных условиях.

- Для специфической профилактики ботулизма ограничено применяют тетра- и триана-токсин, в состав которых входят ботулинические анатоксины типов А, В, Е. Экстренная профилактика осуществляется с помощью противоботулинических сывороток

Неспорообразующие анаэробы

- **Неспорообразующие анаэробы (неклостридиальные) —**

это грамотрицательные (бактероиды, фузобактерии, вейллонеллы) и грамположительные (актиномицеты, пептококки, пептострепто-кокки), палочковидные и кокковидные бактерии с разнообразными биологическими свойствами. Составляют обширную группу облигатных анаэробов, состоящую из различных таксономических категорий.

Классификация неспорообразующих анаэробов

Гр(-) палочки

Bacteroides fragilis
Bacteroides vulgaris
Porphyromonas gingivalis
Prevotella melaninogenica
Prevotella oralis
Fusobacterium nucleatum
Fusobacterium necrophorum
Leptotrichia buccalis

Гр(-) кокки

Veillonella parvula
Veillonella atipica

Гр(+) палочки

Propionibacterium acnes
Propionibacterium avidum
Eubacterium lentum

Гр(+) кокки

Peptococcus niger
Peptostreptococcus magnus
Peptostreptococcus micros
Peptostreptococcus anaerobius

- **Культивируются** в строгих анаэробных условиях (обычно в атмосфере из смеси N_2 , CO_2 и H_2).
- Неспорообразующие анаэробы отличаются полиморфизмом, обладают различной степенью ферментативной активности.
- **Антигенные свойства** у отдельных видов изучены недостаточно.
- **Факторами патогенности** являются капсулы, ферменты, липополисахарид у грамотрицательных бактерий.

Факторы вирулентности бактериоидов

Факторы вирулентности		Биологический эффект
Токсины	эндотоксин	общетоксическое действие на различные органы и ткани
	лейкоцидин	повреждает лейкоциты
Ферменты	коллагеназа	разрушает коллагеновые волокна соединительной ткани и способствует распространению гнойного процесса
	дезоксирибонуклеаза гепариназа	вызывают внутрисосудистые изменения из-за повышенной свертываемости крови в результате разрушения гепарина
	фибринолизин	растворяет тромб, может привести к развитию септического тромбофлебита
	бета - лактамаза	разрушает бета-лактамные антибиотики
Поверхностные структуры клетки	пили	адгезия к субстрату
	капсула	защищает бактерии от фагоцитоза
Метаболиты	летучие и длинноцепочечные жирные кислоты	угнетают хемотаксис и кислородзависимую цитотоксичность лейкоцитов

Факторы вирулентности *Porphyromonas*

Факторы вирулентности	Представители	Биологический эффект
Токсины	Эндотоксин	Общетоксическое повреждающее действие на различные органы и ткани
Поверхностные структуры	Пили	Адгезия к субстрату
Метаболиты	Летучие жирные кислоты	Угнетают хемотаксис и кислородзависимую цитотоксичность лейкоцитов
Ферменты	Нейраминидаза	Разрушает гликопротеины, содержащие нейраминовую кислоту
	Протеазы	Разрушают иммуноглобулины G и M, а также C3-, C5-компоненты комплемента, играющие важную роль в опсонизации и последующем переваривании бактерий лейкоцитами.
Ингибиторы протеаз	Альфа1-антитрипсин	Разрушают альфа1-антитрипсин и альфа2-макроглобулин

- Возбудители быстро погибают в аэробных условиях. На воздействие физических и химических факторов реагируют так же, как и не образующие спор бактерии. Чувствительность к антибиотикам индивидуальная. Грамотрицательные анаэробы (например, наиболее типичный представитель *Bacteroides fragilis*) нечувствительны к аминогликозидам (гентамицину, канамицину), чувствительны к метронидазолу (трихополу), клиндамицину и некоторым другим антибиотикам широкого спектра действия.
- Неспорообразующие анаэробы (бактероиды, фузобактерии, порфиромонады, превотеллы и др.) являются составной частью нормальной микрофлоры человека. Особенно обильно населены ими слизистые оболочки ротовой полости, толстой кишки и половых органов у женщин.

- **Эпидемиология** инфекций, вызываемых неспорообразующими анаэробами, не изучена. Заболевания чаще вызываются собственными, «эндогенными» бактериями, главным образом при снижении резистентности организма хозяина.
- Неспорообразующие анаэробы вызывают самые разнообразные гнойно-воспалительные процессы: в челюстно-лицевой области, легких, печени, поражают мочеполовую систему, опорнодвигательный аппарат, вызывают аппендицит, перитонит, сепсис. Обычно это смешанные инфекции, вызываемые ассоциациями анаэробов с аэробами.
- **Иммунитет** не изучен.

Микробиологическая диагностика

- бактериологический;
- серологический и бактериоскопический методы – ограниченное применение;
- экспресс-диагностика осуществляется методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ).

Бактериологическое исследование

- Посев производят на кровяные среды, обогащенные факторами роста (гемин, менадион). Посевы инкубируют в анаэробных условиях. Для выявления в исследуемом материале темно-пигментированных бактериоидов, превотелл, порфиромонад пробу исследуют в УФ лучах (микроколонии светятся красным светом).
- На первом этапе идентификации определяют родовую принадлежность изолированных культур.
- На втором этапе проводят окончательную идентификацию до вида по биохимическим тестам, антигенным свойствам.

Газовая хроматография

Метод ГЖХ, основанный на хроматографическом определении в материале от больных специфических продуктов метаболизма облигатных анаэробных бактерий — **летучих жирных кислот**. Наличие жирных кислот - анаэробная этиология воспалительного процесса. **Маркеры:** изомасляная и масляная, изовалериановая и валериановая, изокапроновая и капроновая кислоты. **Аэробные бактерии летучие жирные кислоты не продуцируют.**

Лечение

Химиопрепараты нитроимидазольного ряда: метронидазол, тинидазол, орнидазол, и антибиотик клиндамицин. Препараты резерва — производные нитрониазолов. Дренирование гнойников, удаление мертвых тканей, антибактериальная химиотерапия.

Профилактика

- специфическая профилактика отсутствует;
- неспецифическая профилактика - назначение при операциях на органах брюшной полости и малого таза, метронидазола в/в, обработка ран и выявлении гнойно-воспалительных очагов.